取扱説明書

*本製品は研究用キットです。診断、治療目的には使用しないで下さい。
*下記 web 上に掲載しているプロトコールの最新版を確認のうえ操作して下さい。
http://metallogenics/

【測定原理】

本法は Xyridyl Blue-I（XB-I）とマグネシウムとのキレート錯体形成による可視部の発色を観測し、マグネシウム濃度を求めるものです。Xyridyl Blue-I はアルカリ性下でマグネシウムと錯形成し、紫色を経て赤色に発色します。この Mg-XB-I 錯体は 520nm の吸光度が増大しますが、一方、XB-I 由来の 600～680 nm の吸光度は減少します。この吸光度変化を観測することによりマグネシウム濃度を求めることができます。

【マグネシウム定量の意義】

マグネシウムは細胞内陽イオンの中でもカリウムの次に多く含まれ、DNA、RNA、ATP に関連するポリリン酸プロセスや葉緑素などのコファクターとして多くの代謝反応に必要不可欠な元素です。マグネシウム化合物は緩下剤、中和剤として、また、異常な神経刺激、血管子癇の安定性を調節する役割を果たしています。Malabsortion 症候群、利尿剤、アミノグリコシド治療剤、副甲状腺機能亢進症、糖尿病のアシドーシスではマグネシウム濃度が低値を示します。尿毒症、慢性腎不全、糸球体腎炎、アディソン病、抗酸性治療では高値を示します[2]。

【キットの内容】

合計 200 測定分（商品コード：MG01M ）

Chelate Color　（発色液）	50 mL×1
Magnesium Standard　2 mg/dL(0.843μM)　（標準液）	0.66 mL×1

【測定試料の注意点】

・EDTA は測定値に影響を与えるため試料採取時には使用しないでください。
・蓄尿は 10 倍以上希釈したものをアッセイ検体として下さい。
・酸抽出試料等はあらかじめ pH2 以上に調整したものを使用して下さい。
・ライセートなど懸濁している場合は遠心分離等により清澄化したものを使用して下さい。
・測定レンジ以上の高濃度の検体は適当に希釈したものをアッセイ検体としてください。
・本法は、その得られる数値を保証するものではありません。
　応用される際は最適パラメータを試料種ごとに検討の上、ご使用されることをお奨め致します。

【オペレーション】

1．試薬の準備　（用事調製）

Chelate Color　（発色液）：　　そのまま使用して下さい。
Magnesium Standard　（標準液）：　　そのまま使用して下さい。
*開封後は冷暗所（2-8℃）に保存し、1ヶ月以内に使用して下さい。

2．試料の調製

更新・最新情報は弊社 website を参照してください。

◇血清・血漿・尿

血清・血漿：　そのままアッセイ検体として下さい。
尿　：蓄尿の場合はマグネシウムが高濃度となるので 10 倍以上希釈したものをアッセイ検体として下さい。（測定値にこの希釈倍率を掛けてください。）

☆血清、血漿、尿試料のアッセイ時に推奨する測光波長は主波長 660nm（副波長 700nm）です。この場合、Mg 濃度に依存して吸光度が減少していきます。副波長を使用しない場合における測定値への影響は約 5%です。520 nm を測光波長とした場合は、ビリルビン等の影響を受けやすく、ブランクの吸光度も大きいため、660nm の使用をお奨め致します。

◇組織抽出液、ライセート、その他の試料

遠心分離により清澄化させ、そのままアッセイ検体とします。
組織片から酸抽出する場合、ライセート中の Mg の解離を促進させる場合においては以下の例を参考にアッセイ検体を調製して下さい。

(例)　塩酸、硝酸等を試料に添加し 0.01～0.5M 程度の酸試料とする。
（例：試料 1mL + 6M 塩酸 10 μL の希酸抽出液、組織片を 0.5M 塩酸溶解抽出　等）
↓
pH > 2 であることを確認しアッセイ検体とする。

*pH<2 であると発色反応が阻害される可能性があります。
強酸性の場合は水酸化ナトリウム等で中和して下さい。
*懸濁している場合は遠心分離による上清をアッセイ検体とする。

*パラメータは一例です。試料、目的に合わせて最適化して下さい。
*アッセイに適用できる検体は pH > 2 です。

3．アッセイと測定操作

プレートリーダー（紫外可視分光光度計）による定量（1 検体 253 µL 容量）

以下の用量で精製水、標準液、試料をウエルへ分注し、発色液を添加後、5 分間静置、下記の測定条件でマイクロプレートリーダー（紫外可視分光光度計）により測定してください。

○アッセイ

	アッセイ検体		
添加する試薬・試料（µL）	試薬ブランク	Mg 標準試料	試　料
精製水	3	-	-
Magnesium Standard（標準液）	-	3	-
試　料	-	-	3
Chelate Color　（発色液）	250	250	250
十分に混合し、室温 5 分間反応後 所定波長の吸光度を測定			

*ピペッティングにより泡が発生しないように丁寧に混合してください。泡が発生した場合はプレートミキサー等により除去してください。プレートミキサーのみによる混合、撹拌では再現性不良が発生する場合があります。
*標準液の濃度はカットオフ値、目的に合わせて、選択してください。但し 5 mg/dL 以上の試料では 2 倍～10 倍希釈したものをアッセイ検体としてください.アッセイボリュームを変更する場合は上記割合でアッセイして下さい。

測定条件（マイクロプレートリーダー）

測光波長（主波長）	660 nm（推奨）， 520 nm（可能）
補正波長（副波長）	700 nm　（副波長を適用しない場合の期待値に対する誤差は約 5%）
感度のある波長域	濃度依存的に増大：520 nm（夾雑物の影響を受けやすい） 濃度依存的に減少：660 nm（夾雑物の影響を受けにくい）
測定温度	25～37℃
ウエル	96 穴ウエル or 分光測定用セル等

*紫外可視分光光度計を使用してキュベットで測定する場合、測定可能な検体数はマイクロプレートリーダー使用時と比較して少なくなります。ダウンサイズされた微量セルを使用することで 96 穴ウエルと同等の測定数を得ることも可能です。詳細については、弊社 website のサポート情報「紫外可視分光計　微量セル推奨品」を御参照下さい。微量セルはセルホルダーとのクリアランスの僅差による誤差、再現性の低下などが報告されています。使用時にはセルホルダーへ均一に装着されていることを十分に確認してください。*タンパク質低吸着タイプのウエルを使用してください。

○濃度の算出

$$\frac{OD_{試料} - OD_{試薬ブランク}}{OD_{標準} - OD_{試薬ブランク}} \times 2 \times \text{標準液濃度} = \text{Mg 濃度(mg/dL)}$$

$OD_{試料}$　：　試料の吸光度
$OD_{標準}$　：　標準試料の吸光度
$OD_{試薬ブランク}$：　試薬ブランクの吸光度（対照として）

*単位換算　mg/dL×0.412 = mmol/L
0.5 mmol/L = 1.0 mEq/L = 1.22 mg/dL =12.2 mg/L

【主な仕様と性能】

感度	試薬ブランクを対照としてマグネシウム標準液（2 mg/dL）を測定した時の⊿OD は 0.05～0.10 の範囲内です。（主波長 660 nm、副波長 700 nm における測定時）
同時再現性	同一検体を 5 回測定した時の CV は 5%以内です。
正確性	既知濃度の血清標準物質おける表示値との差は 15%以内です。 原子吸光光度法、ICP-MS 法と良好な相関があります。
測定範囲	0.2～5.0 mg/dL（希釈、濃縮しない場合）
共存物質の参考許容範囲	溶血（ヘモグロビン）、抗凝固物質は測定値に影響を与えます。 生理的濃度を超える高濃度のカリウムが存在すると測定値に正の影響を与えます。

【品質保持期限と保存方法】

本品の品質保持期限は製造後 12ヶ月です。（冷蔵 2～8℃）
開封後、冷暗所（2-8℃）で保存し、1ヶ月以内に使用して下さい。

【参考文献】

Mann, C.K.,　Yoe, J.H.,　*Anal. Chem.*, 28, 202－205 (1956).

渡辺寛人, 田中裕晃, BUNSEKI KAGAKU, 26, 635－639(1977).

【製造販売業者】

メタロジェニクス 株式会社　千葉市中央区亥鼻 1-8-15　千葉大亥鼻イノベーションプラザ

※メタロアッセイ ™は、メタロジェニクス（株）の 試薬キットの名称です。

問い合わせ先
メタロジェニクス株式会社　営業部
〒260-0856　千葉市中央区亥鼻 1-8-15　千葉大亥鼻イノベーションプラザ
TEL :　043-227-6767
FAX :　043-227-6768
e-mail :　sales@metallogenics.com
URL:　http://metallogenics.com/

※ 取扱説明書、測定プロトコール等、製品に関する最新の情報は、下記弊社 website のサポートコーナーで御確認下さい。
http://metallogenics.com/
※ 本製品は研究用であり、その数値を完全に保証するものではございません。あらかじめご了承下さい。
※ 表記性能は汎用されているマイクロプレートリーダー、紫外可視分光光度計を用いた場合の目安です。使用機器の型式によっては完全に一致しない場合があります。あらかじめご了承下さい。
※ 品質に関してのお問い合わせの際は、試薬キット包装袋に貼付の Lot No.を御確認の上、お問い合わせ下さい。
※ 商品の仕様・サービス・包装形態・梱包形態・測定プロトコールは、予告なく変更する場合があります。本取扱説明書に従い、適切に御使用下さい。
※ 商品の輸送・取扱い・処理・廃棄については、付属の製品安全データシート（MSDS）に従って下さい。